



北海道公立大学法人
札幌医科大学
Sapporo Medical University

SAPPORO MEDICAL UNIVERSITY INFORMATION AND KNOWLEDGE REPOSITORY

Title 論文題目	Rho-kinase and PKC α inhibition induces primary cilia elongation and alters the behavior of undifferentiated and differentiated temperature-sensitive mouse cochlear cells (Rho-kinase と PKC α 阻害剤は未分化および分化温度感受性マウス蝸牛前駆細胞の 1 次線毛を伸長させる)
Author(s) 著 者	垣内, 晃人
Degree number 学位記番号	甲第 3067 号
Degree name 学位の種別	博士 (医学)
Issue Date 学位取得年月日	2019-3-31
Original Article 原著論文	Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 2019, [in press]
Doc URL	
DOI	
Resource Version	Author Edition

学位論文の内容の要旨

報 告 番 号	甲 第 3067 号	氏 名	垣 内 晃 人
<p>論文題名</p> <p>Rho-kinase and PKCα inhibition induces primary cilia elongation and alters the behavior of undifferentiated and differentiated temperature-sensitive mouse cochlear cells</p> <p>(Rho-kinase と PKCα 阻害剤は未分化および分化温度感受性マウス蝸牛前駆細胞の 1 次線毛を伸長させる)</p> <p>研究目的</p> <p>1 次線毛 (primary cilia) は細胞膜上に生じる小さな不動性の鞭毛様構造物である。一次線毛の異常によって線毛病 (ciliopathies) と呼ばれる遺伝性疾患が惹起されることが報告されている。線毛病には難聴をきたす Bardet-Biedl 症候群や Usher 症候群の報告もあるが、蝸牛有毛細胞の発生および再生における 1 次線毛形成のメカニズムについてはほとんど分かっていない。そこで本研究では、温度感受性マウス蝸牛前駆細胞を用いて、蝸牛細胞における 1 次線毛の形成や動態に関して、外有毛細胞の活動性との関連が報告されている Rho シグナル伝達経路および protein kinase C (PKC) に着目して検討を行った。</p> <p>研究方法</p> <p>温度感受性 SV40-large T antigen 遺伝子導入マウスの胎児より分離培養し不死化させた内耳蝸牛前駆細胞 (US/VOT-E36) を用いた。形態解析 (免疫細胞染色法, 走査電子顕微鏡、透過電子顕微鏡)、ウェスタンブロット法、Muse Cell Analyzer を用いた細胞周期解析、細胞増殖アッセイ、細胞遊走アッセイ、酸化ストレスアッセイにより検討を行った。</p> <p>研究成績</p> <p>Rho-kinase 阻害剤 (Y27632) と PKCα 阻害剤 (GF109203X) の処置により、未分化および分化マウス蝸牛前駆細胞において 1 次線毛の伸長とチュブリンのアセチル化が認められた。1 次線毛の伸長と両立して、中心体の形成に関わる Hook2 の発現のみが GF109203X 処置によって増加するのに対して、Y27632 処置は Hook2 と cyclinD1 発現を増加させて細胞周期依存性の細胞増殖を誘発した。Y27632 処置と GF109203X 処置により未分化マウス蝸牛前駆細胞の酸化ストレスは減少し、細胞遊走が亢進した。</p>			

考察・結論

Rho-kinase 阻害薬 (Y27632) と PKC α 阻害薬 (GF109203X) は未分化及び分化マウス蝸牛前駆細胞の 1 次線毛を伸長させた。それは Hook2 発現の増加を伴っていた。 Hook2 は中心体、 基底小体, ゴルジ装置に局在するリンカー蛋白質であり、 微小管ネットワークの形成に関わる。Hook2 は 1 次線毛の形成に重要な pericentriolar material protein 1 (PCM1) と結合し、安定性に寄与する事が報告されている。

本研究結果より、蝸牛細胞における 1 次線毛の形成には Rho および PKC による Hook2 の制御が関与していると考えられた。

論文審査の要旨及び担当者

(平成 31 年 3 月 31 日授与)

報告番号	甲第 3067 号	氏 名	垣内 晃人
論文審査 担 当 者	主査 教授 高野 賢一	副査 教授 小島 隆	
	副査 教授 長峯 隆	委員 教授 高橋 素子	

論文題名	<p>Rho-kinase and PKCα inhibition induces primary cilia elongation and alters the behavior of undifferentiated and differentiated temperature-sensitive mouse cochlear cells</p> <p>(Rho-kinase と PKCα 阻害剤は未分化および分化温度感受性マウス蝸牛前駆細胞の 1 次線毛を伸長させる)</p>
<p>結果の要旨</p> <p>本研究では、内耳再生を目指すため蝸牛有毛細胞発生における一次線毛形成メカニズムについて Rho シグナル伝達経路および protein kinase C (PKC) に着目して検討を行った。</p> <p>Rho-kinase 阻害剤 (Y27632) と PKCα 阻害剤 (GF109203X) の処置により、未分化および分化マウス蝸牛前駆細胞 (US/VOT-36) において一次線毛の伸長が認められた。一次線毛の伸長と両立して、中心体の形成に関わる Hook2 の発現上昇も観察された。さらに Y27632 処置は未分化蝸牛前駆細胞の CyclinD1 発現および細胞周期を亢進し、細胞増殖に帰着した。Y27632 と GF109203X は未分化蝸牛前駆細胞の遊走能を亢進し、酸化ストレスを減少させた。</p> <p>蝸牛有毛細胞の発生過程において、一次線毛は微線毛の正しい配列にとって必要である。一次線毛の形成は一般的に細胞周期の休止をもたらす事が知られている。</p> <p>蝸牛前駆細胞の一次線毛を伸長させるとともに細胞周期を促進する Y27632 は内耳再生治療薬としての可能性が見出された。</p> <p>以上より、博士の学位授与に値すると審査委員全員に認められた。</p>	